MP Diagnostics

HCV BLOT 3.0

WESTERN BLOT ASSAY

CE
0123

DATA de REVISÃO: 01/06
MAD 0011-POR-1

Observação: alterações realçadas.

REF (kit com 18 testes) : 11130-018
(kit com 36 testes) : 11130-036

NOME E APLICAÇÃO

MP Diagnostics (MPD) HCV Blot 3.0 é um imunoensaio enzimático qualitativo para a detecção *in vitro* de anticorpos para HCV em soro ou plasma humano. É usado como um teste suplementar mais específico em amostras de soro ou plasma humano repetidamente reativas usando procedimentos de triagem como o ensaio de ELISA.

INTRODUÇÃO

O HCV foi identificado como a maior causa de transmissão da hepatite não-A e não-B (NANB). Testes de triagem são amplamente utilizados para o diagnóstico da infecção da Hepatite C. Estes testes de triagem envolvem antígenos da região estrutural (capsid) como também um ou mais antígenos mais específicos de regiões não-estruturais do vírus (NS3, NS4, NS5). Testes de triagem repetidamente positivos requererm testes adicionais e mais específicos para confirmar a soropositividade para o HCV. Reações falso-positivas são possíveis, se forem utilizados métodos de triagem convencionais tais como HCV imunoenzimáticos (ELISA).

Testes Confirmatórios adicionais devem incluir antígenos virais individuais como também controles negativos apropriados. O **MP Diagnostics HCV BLOT 3.0** inclue antígenos estruturais e não-estruturais do HCV e é usado como um teste comfirmatório suplementar para análise e presença de anticorpos para o HCV.

DESCRIÇÃO DOS SÍMBOLOS USADOS

Os símbolos gráficos usados ou encontrados nos produtos e embalagens **MP Diagnostics** estão indicados a seguir. Estes são os símbolos mais comuns em dispositivos médicos e respectivas embalagens. Estes símbolos são explicados com mais detalhes no British e European Standard BS EN 980: 2003.

Símbolo	Descrição	Símbolo	Descrição
(ampulheta)	Usar até *Sinônimos:* Data de Validade	IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
LOT	Código de Lote *Sinônimos:* Número de lote Código da remessa	REF	Número de catálogo
(termômetro)	Limites de temperatura	(⚠)	Atenção. Ver Instruções de Uso
(fábrica)	Fabricante	EC REP	Representante Autorizado na Comunidade Européia
(Σ)	Contém o suficiente para <n> testes	(livro i)	Consulte as instruções de uso
(2 riscado)	Não reutilize		

PRINCÍPIOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

As tiras de nitrocelulose contêm quatro proteínas recombinantes do HCV e formam o Capsid NS3, NS4 e regiões NS5 do genoma do HCV. As proteínas de HCV são expressadas como GST fusão proteínas, assim uma GST banda controle é incluida para indicar reatividade para nativa GST. As tiras de nitrocelulose também contém uma banda controle IgG e a banda anti-IgG. As tiras de nitrocelulose são incubadas individualmente com amostras de soro ou plasma humanos diluídos e controles. Anticorpos específicos do HCV se presentes nas amostras irão se ligar as proteínas de HCV nas tiras. As tiras são lavadas para remover materiais não ligados e depois incubadas utilizando-se conjugado enzimático purificado com fosfatase alcalina. O anticorpo conjugado irá se ligar a qualquer antígeno/anticorpo apresentado na tira. O conjugado não ligado será removido das tiras pelo processo de lavagem. O BCIP/NBT substrato será adicionado para visualização das proteínas reativas nas tiras.

COMPONENTES DO KIT

	Descrição dos componentes	Quantidade Fornecida
ANTIGEN STRIPS	**TIRAS DE NITROCELULOSE** Incorporadas com HCV recombinante estrutural e antígenos não estruturais. Duas bandas de soro controle adicionais (IgG anti-humano e IgG humano). Mantenha-as secas e longe de luz.	Disponíveis em 18 ou 36 tiras
CONTROL – ⚠	**CONTROLE NÃO REATIVO** Soro humano normal inativado não-reativo para o antígeno de superfície da Hepatite B (HBsAg), anticorpos para HIV-1, HIV-2 e HCV. Contém azida sódica e timerosal como conservantes.	1 frasco (80 µl)
CONTROL + ⚠	**CONTROLE REATIVO** Soro humano inativado com alta concentração de anticorpos para HCV e não reativo para anti-HIV-1 e HIV-2 e HBsAg. Contém azida sódica e timerosal como conservantes.	1 frasco (80 µl)
BUF STOCK 10x	**TAMPÃO ESTOQUE CONCENTRADA (10x)** Tampão TRIS com soro de cabra normal inativado por calor. Contém timerosal como conservante.	1 frasco (20 ml)
BUF WASH 20x T	**TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO (20x)** Tampão TRIS/NaCl com tween -20. Contém timerosal como conservante.	1 frasco (70 ml)
CONJUGATE	**CONJUGADO** Anti-IgG humano (de cabra) conjugado com fosfatase alcalina. Contém azida sódica como conservante.	1 frasco (120 µl)
SUBS BCIP / NBT ⚠	**SUBSTRATO** Solução de 5-bromo-4-cloro-3-indolfosfato (BCIP) e tetrazólio de nitroazul (NBT).	1 frasco (100 ml)
POWDER BLOTTING	**PÓ PARA BLOTTING** Leite desnatado em pó.	10 embalgens (1g cada)
	Bandejas de incubação, com 9 canaletas cada	2 ou 4 bandejas
	Manual de Instruções	1 exempler
	Pinças	1 par

Nota: O volume fornecido de reagentes é suficiente para 4 procedimentos.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Exclusivamente para uso de Profissional.
3. Por favor, recorra a bula do produto para informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES DE SAÚDE E SEGURANÇA

⚠ **CUIDADO:** Este kit contém materiais de origem humana. Nenhum método de teste pode oferecer garantia total que produtos de sangue humano não transmitam infecções.

MANUSEI AS AMOSTRAS ASSIM COMO OS CONTROLES REATIVOS E NÃO REATIVOS COMO AGENTES POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. Recomenda-se que os componentes e amostras dos testes sejam manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório. O descarte deverá ser realizado de acordo com procedimentos de segurança vigentes.

O ***Controle Reativo*** e o ***Controle Não-Reativo*** contêm Timerosal e azida sódica enquanto a Solução Tampão Estoque Concentrada e a Solução Tampão de Lavagem Concentrada contém Timerosal e o Conjugado contém azida sódica. A azida sódica pode reagir com cobre e o chumbo usados em alguns sistemas de canalização formando sais explosivos. Embora as quantidades usadas neste kit sejam pequenas, o descarte de materiais contendo azida sódica deve ser feito por lavagem com volumes relativamente altos de água de forma a evitar a formação de azida metálica no sistema de canalização. As frases de risco (R) pertinentes são:

R20/21/22 Nocivo por inalação, em contato com a pele e em caso de ingestão.

O ***Substrato*** contém 5-bromo-4-cloro-3-indolfosfato e azul de nitrotetrazólio, classificados por Diretrizes da Comunidade Econômica Européia (CEE) aplicáveis como nocivo (Xn). As frases de risco(R) pertinentes são:

R20/21/22 Nocivo por inalação, em contato com a pele e em caso de ingestão.

1. Evite contaminação microbiana dos reagentes ao abrir e retirar alíquotas dos frascos originais.
2. Não pipetar com a boca.
3. Manuseie as amostras de testes,as tiras de nitrocelulose, o Controle Reativo e Não-Reativo como agentes potencialmente infecciosos.
4. Use vestuário de laboratório e luvas descartáveis durante a realização do teste. Descarte as luvas em sacos plásticos para lixo biológico perigoso. A seguir, lave bem as mãos.
5. É altamente recomendável que o teste seja realizado numa câmara adequada para material biológico perigoso.
6. Mantenha todo o material longe de alimentos e bebidas.
7. Em caso de acidente ou contato com os olhos, lave imediatamente com água em abundância e procure orientação médica.
8. Consulte um médico imediatamente caso ocorra ingestão de materiais contaminados ou contato com feridas abertas, ou outras soluções de continuidade da pele.
9. Enxugue imediatamente derramamentos de materiais infecciosos com papel absorvente e limpe imediatamente a área contaminada com 1% de solução de hipoclorito de sódio antes de continuar o trabalho. O hipoclorito de sódio não deve ser usado em derramametos contendo ácidos, a não ser que a área seja primeiro enxugada com papél absorvente. O material usado (inclusive as luvas descartáveis)deve ser descartado como material biológico potencialmente perigoso.Não esterelize em autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.
10. Antes do descarte,esterelize em autoclave a 121°C a 15 p.s.i. durante 30 minutos, todo o material contaminado utilizado. Alternativamente, descontamine o material em solução de hipoclorito de sódio a 5% durante 30-60 minutos antes de descartar em sacos para lixo biológico.
11. Descontamine todas as substâncias químicas usadas e reagentes adicionando um volume suficiente de hipoclorito de sódio para obter uma concentração final de pelo menos 1%. Deixe agir durante 30 minutos para assegurar uma desinfecção efetiva.
12. Nós não recomendamos a reutilização das bandejas de incubação.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

1. Amostras de soro, plasma de EDTA ou citrato de plasma podem ser utilizados. Amostras de plasma coletadas em heparina não devem ser utilizadas pois podem causar reações não-especifícas para a banda núcleo de HCV. (HCV Core)
2. O ótimo desempenho do ensaio requer **SEGUIR Á RISCA** ao procedimento de ensaio descrito neste Manual de Instrução. Divergências do procedimento podem acarretar resultados anômalos.
3. **NÃO MODIFIQUE OU SUBSTITUA REAGENTES DE UM LOTE DE KIT PARA OUTRO.** Controles, conjugado e as tiras de Western Blot são combinadas entre si para oferecer um desempenho perfeito. Use somente reagentes fornecidos com o kit.
4. Não use componentes do kit após a data de validade impressa no kit.
5. Evite contaminação microbiana dos reagentes, ao abrir e retirar alíquotas dos frascos originais. A contaminação reduz prematuramente a vida útil dos kits e fornece resultados errôneos. Use técnicas assépticas como por exemplo, pipetas ou ponteiras descartáveis para retirar alíquotas dos frascos.
6. Em cada ensaio de amostras de pacientes, deve-se utilizar os controles do kit em paralelo.
7. Use uma ponteira de pipeta nova para cada amostra, para evitar contaminação cruzada.
8. Para melhores resultados, dispense todos os reagentes enquanto estiverem frios e retorne-os ao armazenamento 2°C a 8°C o mais rápido possível.
9. Recomenda-se que a vidraria a ser utilizada com os reagentes seja lavada com ácido clorídrico 2M e enxaguada abundantemente com água destilada ou deionizada antes do uso.
10. Use somete água de qualidade grau reagente, deionizada ou destilada para diluir os regentes.
11. Todos os reagentes devem ser bem misturados antes de uso.
12. A solução de Conjugado deTrabalho, a Solução de Tampão de Lavagem Diluída e a Solução Tampão para Blotting devem ser **preparadas logo antes do uso.**
13. A solução de Conjugado de Trabalho deve ser preparada usando um recipiente Becher de polipropileno.
14. Não exponha os reagentes ou realize testes em áreas que apresentem altos níveis de vapores de desinfetantes químicos (por exemplo: vapores de hipoclorito) durante as etapas de armazenamento ou de incubação. O contato inibe a reação colorida. Da mesma forma, não exponha os reagentes à luz intensa.
15. O ensaio deverá ser realizado preferencialmente à temperatura ambiente (25°C ± 3°C).
16. Certique-se que as tiras de testes estão dispostas com os números nas tiras voltados para cima.
17. Para o ensaio de WesternBlot, é importante usar um agitador de plataforma oscilante e não um agitador rotativo. Caso contrário, o dempenho do kit ficará comprometido. A velocidade e o ângulo de inclinação recomendados para o agitador são de 12 a 16 ciclos por minuto, e 5 a 10 graus, respectivamente.
18. Se usar equipamento automatizado, verifique se está aferido antes do uso.
19. Certifique-se que as amostras são adicionadas longe da tira. A bandeja pode ser agitada e a amostra adicionada no local onde a solução-tampão for coletada na extremidade inferior. Isto evitará a formação de manchas escuras devido á adição de amostra na tira.
20. Evite o uso de congeladores do tipo frost free para armazenar reagentes e amostras.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

1. Conserve o kit HCV BLOT 3.0 MPD e seus componentes à 2°C a 8°C quando não estiverem em uso.
2. Todos os reagentes e tiras do teste permanecem estáveis até a data de validade fornecida no kit se conservado entre 2°C a 8°C. Não congele os reagentes.

A. **Tiras de antígeno**
- Evite exposição desnecessária das tiras de antígeno á luz.

B. **Reagentes**
- Armazene os reagentes nos frascos originais e mantenha-os tampados ao armazená-los.
- Dispense todos os reagentes ainda frios e volte a armazená-los o mais rápido possível a 2°C a 8°C.
- Precipitações podem se formar quando o Substrato é armazenado à 2°C a 8°C. Isto não afetará o desempenho do kit.

<u>PRECAUÇÃO:</u> Evite exposição desnecessária do Substrato á luz.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

Soro, amostras de plasma de EDTA ou citrato de plasma podem ser utilizados. Amostras coletadas em heparina preferencialmente não devem ser utilizadas pois podem causar uma reação não específica para a banda HCV Core.

As amostras devem ser conservadas à 2°C a 8°C se o teste for realizado dentro de 7 dias após a coleta ou congelada à -20°C se for previsto que o teste será realizado em mais de 7 dias após a coleta. É preferível usar amostras límpidas e não hemolisadas. Amostras lipêmicas, ictéricas ou contaminadas (partículas ou bactérias) devem ser filtradas a (0.45µm) ou centrifugadas antes do teste.

Os soros dos pacientes podem ser inativados mas esta não é uma exigência para ótimo desempenho de teste.

Inative da seguinte forma:
1. Afrouxe as tampas dos recipientes de soro.
2. Aqueça o soro a 56°C durante 30 minutos em banho-maria.
3. Deixe o soro esfriar antes de apertar novamente as tampas.
4. O soro pode ser mantido congelado até a análise.

Recomendamos que os soros dos pacientes não sejam submetidos a vários ciclos de congelamento e descongelamento antes de serem analisados.

MATERIAIS ADICIONAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Água deionizada ou destilada.
- Luvas descartáveis
- Plataforma de Agitação (com velocidade de agitação na faixa de 12 a 16 oscilações por minuto, e com capacidade de inclinação entre 5° a 10° para lavagem uniforme das membranas)
- Pipetadores e ponteiras de volumes apropriados.
- Sistema de aspiração e contenção em hipoclorito de sódio
- 56°C banho-maria (opcional)
- Hipoclorito de sódio para desinfecção

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

1. SOLUÇÃO TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDO
(A) TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDO **deve ser preparado recentemente antes do uso.**
(B) Diluir 1 volume do TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO (20X) com 19 volumes de água grau reagente. Misturar bem.

2. SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING
(A) TAMPÃO PARA BLOTTING **deve ser preparado recentemente antes do uso.**
(B) Diluir 1 volume do TAMPÃO ESTOQUE CONCENTRADO (10X) com 9 volumes de água grau reagente. Misturar bem.
(C) Adicionar 1 g de PÒ PARA BLOTTING para cada 20 ml do TAMPÃO ESTOQUE DILUÍDO preparado no passo 2(B) acima. Misturar bem.
(D) Misturar novamente antes de dispensar.

3. SOLUÇÃO DE TRABALHO DO CONJUGADO
Nota: Prepare a solução em recipiente de polipropileno / proveta.
(A) SOLUÇÃO DE TRABALHO DO CONJUGADO **deve ser preparado recentemente antes do uso.**
(B) Preparar a SOLUÇÃO DE TRABALHO DO CONJUGADO diluindo o CONJUGADO 1:1000 no TAMPÃO PARA BLOTTING, por exemplo, 5µl CONJUGADO para 5ml do TAMPÃO PARA BLOTTING.

4. SOLUÇÃO do SUBSTRATO (pronto para uso)
(A) Dispensar o volume necessário diretamente do frasco. Usar uma pipeta limpa. Fechar bem o frasco após o uso.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Nota: A) Aspirar todos os produtos químicos e reagentes utilizados para o sistema de aspiração contendo hipoclorito de sódio.

B) Todas as incubações devem ser realizadas em plataforma de agitação por oscilação.

Precaução:

Algumas amostras podem provocar manchas escuras no ponto da tira em que são aplicadas. Para evitar este problema, deve-se:

i. Pipetar a amostra somente após a adição da SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING.

ii. Inclinar a bandeja ligeiramente, elevando a extremidade superior ou inferior da bandeja. A SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING fluirá para a extremidade mais baixa da bandeja. Adicione a amostra onde a SOLUÇÃO TAMPÃO PARA BLOTTING é coletada. Quando todas as amostras tiverem sido adicionadas, retorne a bandeja á posição horizontal original. Certifique-se que as tiras se mantém sempre úmidas durante o procedimento.

iii. Alternativamente, caso não deseje inclinar a bandeja,as amostras podem ser adicionadas na extremidade superior ou inferior da canaleta. Desta forma, a leitura da tira não será afetada caso tenham se desenvolvido manchas escuras.

Procedimento:

1. Usando pinça, retire cuidadosamente o número necessário de TIRAS do tubo e coloque-as em cada canaleta com a face numerada voltada para cima. Inclua tiras para os controles REATIVO e NÃO-REATIVO.
2. Adicionar 2 ml da SOLUÇÃO DE LAVAGEM DILUÍDO em cada canaleta. — **2 ml**
3. Incubar isoladamente as tiras durante pelo menos <u>1-2 minutos</u> a temperatura ambiente (25 ± 3 °C) em uma plataforma de agitação (velocidade de 12 a 16 oscilações por minuto). Remover a solução-tampão por aspiração. — **2 minutos**
4. Adicionar 2 ml da SOLUÇÃO PARA BLOTTING em cada canaleta. — **2 ml**
5. Adicinar 20 µl de cada soro de pacientes ou controles nas canaletas apropriadas. Deve-se ter cuidado para assegurar-se que as amostras não são adicionadas diretamente sobre as tiras. — **20 µl**
6. Cobrir a bandeja com a tampa fornecida e incubar durante <u>1 hora</u> em temperatura ambiente (25 ± 3°C) na plataforma de agitação. — **60 minutos**
7. Retirar cuidadosamente a tampa da bandeja, evitando respingos ou misturar as amostras. Inclinar a bandeja para aspirar a mistura das canaletas. Troque as ponteiras do aspirador entre as aplicações das amostras para evitar contaminação cruzada.
8. Lavar cada tira 3 vezes com 2 ml de TAMPÃO DE LAVAGEM DILUÍDO deixando de molho (imersas) durante <u>5 minutos</u> na plataforma de agitação entre cada lavagem. — **3 x 2 ml**
9. Acrescentar 2 ml da SOLUÇÃO DE TRABALHO CONJUGADO em cada canaleta. — **2 ml**
10. Cobrir a bandeja e incubar durante <u>1 hora</u> a temperatura ambiente (25 ± 3°C) na plataforma de agitação. — **60 minutos**
11. Aspirar o CONJUGADO das canaletas. Lavar como na etapa 8. — **3 x 2 ml**
12. Adicionar 2 ml da SOLUÇÃO de SUBSTRATO em cada canaleta. — **2 ml**
13. Cobrir a bandeja e incubar durante <u>15 minutos</u> na plataforma de agitação. — **15 minutos**

14. Aspirar o SUBSTRATO e enxaguar as tiras pelo menos três vezes com água grau reagente para parar a reação (a lavagem insuficiente nesta etapa poderá provocar o desenvolvimeto de um fundo escuro). — **3 x 2 ml**
15. Usando a pinça remover cuidadosamente as tiras e coloque-as sobre papel toalha. Cobrir com toalhas de papel e secar. Alternativamente, deixar as tiras secarem nas canaletas da bandeja.
16. Montar as tiras sobre folha de trabalho (papél branco não absorvente). Monte em folha de trabalho (livro branco não absorvente). Não aplicar fitas adesivas sobre as bandas reveladas. Observar as bandas (Veja Interpretação dos Resultados) e interpretar os resultados. Para armazenamento, mantenha as tiras no escuro.

RESUMO DOS PROTOCOLOS DO TESTE

Reagentes	Qty	Duração
Tiras de Nitrocelulose	1	-
Solução Tampão de Lavagem	2 ml	2 mins
Solução Tampão para Blotting	2 ml	-
Amostra	20 µl	60 mins
Solução Tampão de Lavagem	3 x 2 ml	3 x 5 mins
Conjugado	2 ml	60 mins
Solução Tampão de Lavagem	3 x 2 ml	3 x 5 mins
Substrato (Pronto para uso)	2 ml	15 mins
Água destilada	3 x 2 ml	-

QUANTIDADE NECESSÁRIAS DE REAGENTES PARA VÁRIAS TIRAS

Reagentes	NÚMERO DE TIRAS A SEREM USADAS						
	3	6	9	15	20	27	36
1X SoluçãoTampão de Lavagem (ml)	60	100	140	240	300	400	520
1X Solução Tampão para Blotting (ml)	20	40	60	80	100	120	160
Conjugado (µl)	11	17	23	35	45	59	77
Substrato (ml)	11	17	23	35	45	59	77
Pó de Blotting (g)	1	2	3	4	5	6	8

CONTROLE DE QUALIDADE

Os controles Não-Reativo e Reativo devem ser usados, independentemente do número de amostras sob análise. Para que todos os resultados obtidos nos testes sejam considerados válidos, as seguintes condições deverão ser preenchidas:

1. BANDA CONTROLE (Anti-IgG e IgG CONTROLE)
As duas bandas controle (anti-IgG e IgG, que se referem ao diagrama abaixo) poderão apresentar diferentes reações em todos os blots. A presença da banda anti-IgG indica que o soro foi adicionado na etapa de incubação inicial. A ausência da banda controle anti-IgG e a presença da banda IgG na tira, indica que houve falha para adicionar o soro do paciente. A ausência de qualquer banda no ensaio incluindo as bandas controle, indica falha na técnica ou em algum reagente do kit.

2. CONTROLE NÃO REATIVO
Somente a presença das bandas controle IgG e anti-IgG aparecerão na reação da tira. (Figo. 1c)

3. CONTROLE REATIVO
Todas as proteínas HCV recombinantes serão reativas juntamente com o soro controle reativo. Adicionalmente as bandas controle anti-IgG e IgG também estarão presentes. A banda controle GST pode não estar presente. (Figo 1b).

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

O diagrama abaixo apresenta os antígenos e controles do HCV BLOT 3.0 MPD

Strip Identification | 3+ control band (Anti-IgG band) | Core | NS3-1 | NS3-2 | NS4 | NS5 | GST Control | 1+ control band (IgG band)

Localize e identifique a intensidade das bandas controle. A 3+ intensificada é a anti-IgG e a 1+ intensificada é a banda controle IgG. Essas deverão estar visíveis em todas as tiras. A intensidade de qualquer banda reativa é comparada com essas duas bandas como referência. A comparação com essas duas bandas é utilizada para avaliar o resultado da reação para cada antígeno nas tiras.

PADRÃO	INTERPRETAÇÃO
1) Nenhuma reatividade	-
2) Reatividade < 1+ controle	±
3) Reatividade = 1+ controle	1+
4) Reatividade > 1+ e < 3+ controle	2+
5) Reatividade = 3+ controle	3+
6) Reatividade > 3+ controle	4+

PERFIL DO BLOT	INTERPRETAÇÃO
Nenhuma banda de 1+ ou maior reatividade	**NEGATIVO**
1+ ou maior reatividade para 2 ou mais antígenos do HCV ou 2+ maior reatividade somente para banda Core	**POSITIVO**
Nenhuma banda do HCV de 1+ ou maior reatividade mas o padrão não corresponde ao critério para POSITIVO	**INDETERMINADO**

Reações contendo unicamente a banda controle GST são consideradas **NEGATIVA.**

A reação da banda controle GST 1+ ou mais e 1+ ou maior reatividade em um ou mais antígenos de HCV são considerados **INDETERMINADOS.**

Qualquer amostra não reativa no HCV de outro fabricante de HCV ELISA ou teste confirmatório, poderá ser reativo no HCV BLOT 3.0 MPD devido à presença de um único Epitope neste teste confirmatório.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

O desempenho do HCV BLOT 3.0 MPD para a detecção de anticorpos do HCV foi avaliado testando amostras de doadores de sangue, pacientes com anticorpos conhecidos para HCV, pacientes com doenças relacionadas com HCV e pacientes com doenças não relacionadas com HCV. Além disso, foi testado em painéis de soroconversão comercialmente disponíveis.

Sensibilidade
Foram estudadas 330 amostras reativas para anti-HCV ELISA, das quais 329 amostras foram detectadas reativas para HCV BLOT 3.0 MPD. Um resultado negativo foi confirmado como um falso positivo do ELISA. Foi calculada sensibilidade como >99.9%.

A sensibilidade também foi avaliada usando 14 painéis de soroconversão comerciais e 4 baixos ou misturados painéis de título comercialmente disponíveis. O desempenho do Diagnósticos do HCV BLOT 3.0 MPD foi comparãvel ao Chiron HCV RIBA 3.0.

Além disso, o HCV BLOT 3.0 MPD foi capaz de detectar amostras do genotipo do HCV (genótipo 1a- 6) no BBI HCV painel do Genótipo (PHW 201).

Especificidade
Um total de 200 amostras de doadores de sangue foi testado. 193 amostras eram negativas, enquanto 7 amostras apresentaram um resultado indeterminado. Além disso, um total de 280 espécies clínicas de infecções viróticas e bacterianas agudas, s neonatal, lipemia, ictericia e amostras hemolisadas. O HCV BLOT 3.0 MPD apresentou alta especificidade nestas amostras.

LIMITAÇÕES DO METODO

Uma excelente performance da reação requer estrita aderência do procedimento descrito. O não cumprimento poderá resultar em reações aberrantes.

Um resultado **NEGATIVO** não exclui a possibilidade de infecção pelo vírus do HCV. Um resultado **INDETERMINADO** não poderá ser considerado um diagnóstico de infecção pelo HCV. Reação de maior ou igual 1+ sobre um antígeno de HCV será considerado como uma reação não específica, uma indicação de uma infecção passada solucionada, ou uma indicação de uma recente soroconversão.

Nós recomendamos a restestagem com uma nova amostra de dois a seis meses após.

Amostras de soro que apresentem resultados indeterminados, podem ser testadas por PCR para futuras determinacoes quer a pessoa seja exposta ou infectada com HCV.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE EXPLÍCITA LIMITADA

O fabricante não oferece nenhuma garantia expressa se não a de que o kit de teste funcionará como um ensaio diagnóstico *in vitro* dentro das especificações e limitações descritas neste Manual de Instruções do Produto quando usado em conformidade com as instruções nele contidas. O fabricante isenta-se de qualquer garantia expressa ou implícita, incluindo as garantias expressas ou implícitas em relação a capacidade de comercialização, de utilização ou utilidade implícita para quaisquer outros fins. A responsabilidade do fabricante limita-se a substituição do produto ou reembolso do preço de compra do produto. O fabricante não será considerado responsável pelo comprador nem por terceiros por quaisquer danos, prejuízos, perdas de caráter econômico causados pelo uso ou aplicação do produto.

PROBLEMAS TÉCNICOS / RECLAMAÇÕES

Caso haja algum problema técnico, solicitamos proceder da seguinte forma:

1. Anotar o número do lote do kit e a data de vencimento.
2. Conserve o kit e os resultados que foram obtidos.
3. Contate o escritório da MP Biomedicals mais próximo ou seu distribuidor local.

REFERÊNCIAS

1. Choo Q-L., et al. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. Science; 244: 359-62.
2. Kuo G., et al. 1989. An assay for circulating antibodies to a major etiologic vírus of human Non-A, Non-B hepatitis. Science; 244: 362-364.
3. Kleinman S., Altere o H., Busch M., et al. 1993. Increased detection of hepatitis C vírus infected blood donors by a multiple antígen HCV enzyme immunoassay. Transfusion; 32: 805-813.
4. Van der Poel C. L. Reesink H., W., Schaasberg W. et al. 1990. Infectivity of seropositives for hepatitis C vírus antibodies. Lancet; 335:558-560.
5. Colombo M., Kuo G., Choo Q-L., et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma, Lancet; 2: 1006-8.
6. Bruix J., Barrera J., Calvert X. et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis, Lancet; 2: 1004-6. 1004-6.

MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.
85 Science Park Drive
#04-01, The Cavendish
Singapore Science Park
Cingapura 118259
Tel. N°. : + 65 6775 0008
Fax. N°. : + 65 6775 4536
E-mail : enquiry_ap@mpbio.com

EC REP
Medical Technology Promedt
Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert
Alemanha
Tel. N°. : + 49 68 94 58 1020
Fax N°. : + 49 68 94 58 1021
E-mail : info@mt-procons.com

Escritórios Regionais:

MP Biomedicals Suisse S.A.
Halle de Fret/Aeroport
P.O. Box 1015
1211 Genebra 5
Suíça
Tel N°. : (4122) 788-1908
Fax N°. : (4122) 788-1986
E-mail: mpbiosuisse@mpbio.com

* O nome e o logotipo Genelabs são licenciados da Genelabs Technologies, Inc.

FIGURA 1

a. b. c.

3+ banda controle

Core

NS3 -1

NS3 -2

NS4

NS5

Proteinas do HCV

GST banda controle

1+ banda controle

a. Controle Reativo Fraco
b. Controle Reativo Forte
c. Controle Não Reativo.
(Nota: A posição da banda GST está indicada, mas a banda não ficará visível se o soro não for reativo para a banda GST.)